



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
CARRERA DE BIOLOGIA

**CALIDAD NUTRIMENTAL DE ESPECIES DE CHLOROPHYCEAE
EN RASGOS DEMOGRAFICOS DE *Moina macrocopa* (STRAUS
1820: CLADOCERA)**

TESIS

Para obtener el grado de académico de

BIÓLOGO

Presenta

Olga Lidia Florencio Florencio

Director de Tesis: **DR. JOSE LUIS GAMA FLORES**

Sinodales: **M. EN C. MARIA GUADALUPE OLIVA MARTINEZ**

M. EN C. MARIA ELENA HUIDOBRO SALAS

BIÓL. MARIA DE LOS ANGELES GARCIA GOMEZ

BIÓL. ERIK LOEZA TORRES

Los Reyes Iztacala, Edo. de México, 2018.





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por abrirme las puertas y permitirme vivir esta gran experiencia de conocimiento.

Al Dr. José Luis Gama Flores y M. en C. María Elena Huidobro Salas quienes me brindaron su apoyo durante la realización de este proyecto, aprendiendo mucho de sus observaciones y consejos. Más allá del ámbito académico, representaron un apoyo el plano personal con sus anécdotas, vivencias y consejos, las cuales son de gran valor.

Al M. en C. Luis Balbo Portilla, del laboratorio de Análisis Químicos de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la FES Iztacala, por el apoyo brindado para la realización de este proyecto.

A los revisores de este trabajo por sus críticas oportunas para ayudar a enriquecer mi formación académica.

“A todas las niñas rebeldes del mundo:

Ustedes son la esperanza,

Ustedes son la fuerza.

No den un paso atrás,

Y todos avanzarán”.

(Elena Favilli y Francesca Cavallo)

Dedicatorias

A mi mamá y papá, por todo lo que sacrificaron por mí y por todos esos días difíciles que parecían ser eternos, por cada una de las cosas que hicieron para que yo pudiera vivir este día, porque me apoyaron en todo momento aun cuando yo no los entendía, más allá de ser una buena estudiante, soy una noble persona, porque ustedes me guiaron con su ejemplo.

A mis hermanos Rubén, Daniel y Gerardo, porque con ustedes viví una infancia maravillosa y aun ahora me hacen reír siempre con sus ocurrencias.

A Miguel, mi amigo, mi camarada, mi compañero de vida, a ti que estuviste ahí desde que comencé este camino, tu que estuviste ahí todos los días, buenos y malos, tu mi familia que escogí, no sé a quién agradecer el que me hayas pasado tan pronto, la vida es muy divertida a tu lado.

A mi abuela y a mi tía Yani, piezas clave, para despertar mi curiosidad por la naturaleza, por todos sus conocimientos que alguna vez ocupe en exposiciones, por todas las muestras que me enviaron desde ese mágico lugar donde pase mi infancia rodeada de cosas que alimentaban mi enorme curiosidad, la cual pude saciar al entrar a esta hermosa carrera.

A mis amigos de la carrera Tomas, Pedro, Laura, Edith, Gina, Lesly y a todos aquellos que me acompañaron en este rudo pero excitante camino, con ustedes pase momentos increíbles, emocionantes, pero también malos y estresantes, llevo siempre conmigo las experiencias que tuve con ustedes.

A Natalia, por ti entendí la vida, los días más difíciles y también los más hermosos me las has dado tú, a veces la vida no se trata de ser el mejor, si no de ser cada día mejor persona; tú ya naciste con un talento, búscalos, explótalos y ama cada una de las cosas que hagas.

Índice

1. Introducción.....	5
1.1 Características generales de Chlorophyceae.....	6
1.2 Producción de alimento vivo.....	9
1.3 Evaluación de la calidad nutrimental de las microalgas...	10
2. Antecedentes.....	12
3. Justificación.....	13
4. Objetivos.....	14
5. Pregunta Experimental.....	14
6. Material y método.....	15
6.1 Especies utilizadas.....	15
6.2 Dietas.....	16
6.3 Fase experimental.....	17
6.4 Obtención de ácidos grasos.....	19
7. Resultados.....	21
7.1 Crecimiento poblacional.....	21
7.2 Demografía.....	23
7.3 Contenido de Ácidos grasos de las Chlorophyceae experimentales.....	25
8. Discusión.....	27
9. Conclusiones.....	31
10. Referencias.....	32

Introducción

Durante las últimas cuatro décadas, una gran variedad de especies de microalgas se han probado como alimento, pero probablemente menos de veinte han ganado un amplio uso en la acuicultura. Las microalgas son reconocidas como las dietas más eficaces para los primeros estadíos de crustáceos, debido a su aportación de ácidos grasos poliinsaturados como los C-20 y C-22 (Gelabert *et al.*, 1993; Merchie *et al.*, 1997; Boeing, 1999). Los trabajos pioneros de Chu y Webb (1984) mostraron la importancia de los ácidos grasos esenciales y las relaciones entre los ácidos grasos n-3 y n-6, que promueven un mayor crecimiento, generándose así un indicador de la calidad de las microalgas.

Estas deben poseer una serie de atributos clave que son útiles a las especies acuícolas. Deben ser de un tamaño adecuado para la ingestión, por ejemplo, de 1 a 15 μm para filtradores; y de 10 a 100 μm para herbívoros (Webb y Chu, 1984; Kawamura *et al.*, 1988). Deben tener altas tasas de crecimiento, ser susceptibles al cultivo en masa, y también ser estables a las fluctuaciones de temperatura, luz y nutrientes como puede ocurrir en los criaderos. Por último, deben tener una buena composición de nutrientes, incluyendo la ausencia de toxinas que podrían ser transferidos en la cadena alimenticia (Brown y Jeffrey, 1992).

Es por ello, que muchos trabajos de investigación están encaminados a determinar los niveles de aminoácidos, azúcares, vitaminas y ácidos grasos (Watanabe *et al.*, 1983; Volkman *et al.*, 1989; Brown, 1991; Brown y Jeffrey, 1992) y cómo, diferentes variables ambientales (salinidad, intensidad luminosa, fotoperiodo y temperatura) afectan los niveles de estos compuestos (Sukenik y Carmeli, 1990; Renaud *et al.*, 1991; Renaud y Parry, 1994). Sin embargo, poca o nula atención han recibido aspectos más básicos que pueden mejorar la producción de las microalgas. Uno de estos aspectos es la densidad de siembra óptima más apropiada para la producción y no existe información disponible para ninguna especie en la que

se detalle cual es el mejor inóculo para una producción en un tiempo razonable y se tenga una buena densidad de cosecha.

Por otro lado recientes estudios han demostrado que algas como *Chlorella* y *Scenedesmus* tienen elevados contenidos de ácidos grasos altamente insaturados (Peña, 2003). Por ejemplo *Chlorella sp.*, tienen diversas vitaminas así como ácido eicosapentaenoico (3.2%), los cuales son importantes para el desarrollo de larvas (Langdon y Waldock, 1981; Sargen *et al.*, 1997). Mientras que *Scenedesmus acutus* posee un 27% de ácidos grasos poliinsaturados de cadena de 16 carbonos, 6% de ácido linoleico y 28% de ácido α -linolénico (Abalde *et al.*, 1995). Estos ácidos participan en procesos fisiológicos, son componentes de las membranas celulares, formando parte de la estructura de fosfolípidos y glicolípidos; además, son moléculas combustibles y algunos de sus derivados actúan como hormonas o mensajeros y son además considerados por la acuicultura como esenciales para los peces y crustáceos (Stryer, 1995).

Para poder evaluar la eficacia en la alimentación de los cladóceros, las tablas de vida son útiles ya que generan información sobre la influencia de las condiciones ambientales en la estructura poblacional de una especie, como edad específica, mortalidad, fecundidad, y biología reproductiva (Martínez y Ventura, 2011).

Características generales de Chlorophyceae

Las microalgas representan uno de los más grandes grupos de microorganismos, sin embargo, poco conocidos. Como sucede con las plantas en relación con los animales terrestres, las microalgas representan la base alimenticia natural y principal fuente de nutrientes a granel en la cadena alimenticia acuática.

La clasificación de estos organismos, permanentemente sufre modificaciones. Las primeras clasificaciones se basaron principalmente en la pigmentación o color del alga (Dawson, 1966 y Chapman, 1970). Hoy en día, se toman en cuenta otras características como: forma externa, presencia o ausencia de flagelos, tipo de

sustancia de reserva, moléculas presentes en pared celular, organización celular, tipo de reproducción y ciclo de vida (Van de Hoek *et al.*, 1995 y Dawes, 1998).

El sistema de clasificación de las algas varía dependiendo del autor, aunque de forma general se reconocen entre cuatro y nueve divisiones. Actualmente se cuenta con una base de datos global de las especies de todos los grupos de algas (AlgaeBase) la cual mantiene actualizada la información taxonómica. Se reconocen cuando menos otras tres grandes phyla de algas eucariotas: algas verdes (Chlorophyta), las algas rojas (Rhodophyta) y algas pardas (Phaeophyta), además del grupo de las algas verde-azules.

De acuerdo a AlgaeBase 2017, las algas verdes (Chlorophyta) pertenecen al reino plantae, en la Tabla 1, se ilustra la taxonomía de las algas verdes *Chlorella* y *Scenedesmus*.

Tabla1. Posición taxonómica de las microalgas utilizadas como dietas en este trabajo.

Dominio	SubReino	División	Clase	Orden	Familia	Especie
Eucariota	Viridiplantae	Chlorophyta	Trebouxiophyceae	Chlorellales	Chlorellaceae	Chlorella vulgaris Beyerinck
			Chlorophyceae	Sphaeropleales	Scenedesmaceae	Scenedesmus acutus Meyer

Por sus características, las algas verdes comprenden uno de los mayores grupos de algas, por su gran número de especies y la variedad de formas que incluyen algas unicelulares, multicelulares y filamentosas, almacenan sustancias de reserva en forma de almidón y su color verde se atribuye a los pigmentos como la clorofila a y b; α , β carotenos y varias xantofilas (Craig, 1991). En el mundo existen alrededor de 20,000 especies de este grupo que crecen tanto en agua dulce, salobre, marina, así como en diferentes ambientes terrestres (Norton *et al.*, 1996).

Los cultivos de microalgas son identificados mundialmente como fuentes de proteínas, grasas, carbohidratos y vitaminas, las que varían según la especie de que se trate (Borowitzka, 1988), por ejemplo, su importancia en la acuicultura se

debe a que son fuente de diversos nutrientes esenciales para larvas y juveniles de moluscos, crustaceos y peces de importancia comercial. Es por ello, que muchos trabajos de investigación están encaminados a determinar los niveles de aminoácidos, azúcares, vitaminas y ácidos grasos (Watanabe *et al.*, 1983; Volkman *et al.*, 1989; Brown, 1991; Brown y Jeffrey, 1992).

Son consideradas como fuentes muy valiosas de diversas moléculas (por ejemplo, los ácidos grasos poliinsaturados, y en la obtención de aceites esenciales debido a su composición química (Harun *et al.*, 2010)), para las industrias de geles como el agar y carragenina, esta última para espesar jaleas y gelatinas.

Además de que se les atribuye cuando menos el 50 % de la regulación de gases atmosféricos importantes para la vida en el planeta (Guevara, 2004), a través del proceso de fotosíntesis (remueve el CO₂ de la atmósfera) y libera el oxígeno como un subproducto. En ese sentido, todos los cuerpos de agua a cielo abierto tienen un gran valor ecológico como trampas vivientes de gases de efecto invernadero y purificación de biogás (Conde *et al.*, 1993), así como recuperación de cuerpos de agua contaminados (Ayala y Vargas 1987; Sim *et al.*, 1988; Canizares-Villanueva y Ontiveros-Arredondo, 1993)

Así, la biotecnología de microalgas se ajusta al contexto del mundo actual, pues además de satisfacer un interés científico y comercial, es una estrategia ecológica como por ejemplo el empleo de microalgas para el tratamiento de aguas residuales que se ha convertido en un tema muy estudiado debido a la eficiencia de estas para limpiar el agua y por la utilidad que representa la biomasa algal generada durante este proceso. Aunado al tratamiento de aguas residuales se pueden obtener productos de valor agregado, los cuales van desde obtención de biodiesel, productos farmacéuticos y suplementos alimenticios. El subproducto que ha tomado más auge, es la producción de biodiesel a partir de microalgas, el cual está siendo muy estudiado en países de Europa y los Estados Unidos como una fuente alterna de producción de energía (Chisti 2007 y Mata *et al.*, 2010)

Todo lo antes mencionado ha posibilitado su cultivo y explotación industrial así como el desarrollo e implementación de la biotecnología. De hecho, en los últimos años, compañías de la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria, han ampliado su mercado y competitividad gracias a las microalgas. Hoy en día, existen numerosas aplicaciones comerciales de las microalgas. Por ejemplo, varias especies son comercialmente interesantes para mejorar el valor nutritivo de los alimentos de consumo humano y/o animal (Martínez-Palacios *et al.*, 2002)

Producción de alimento vivo

La producción de cantidades necesarias de alimento vivo para desarrollar especies de interés sigue siendo el cuello de botella en acuicultura, múltiples complicaciones como el costo de mano de obra y equipamiento o aún más importante el valor nutricional del alimento vivo que se produce, mismo que puede perderse debido a los problemas en producción o no generar diferencias al administrarse a los peces (Soorgeloos, 1980). En el éxito de las distintas técnicas de cultivo intervienen un gran número de factores como la calidad nutritiva del alimento (Grossi, 2010).

Las especies de alimento vivo predominantes en acuicultura incluyen rotíferos y cladóceros (Yúfera y Pascual, 1984). De manera general los Cladoceros presentan la ventaja de tener altos coeficientes de reproducción, amplia tolerancia ambiental, ser fáciles de cultivar y mantener en laboratorio, pueden ser enriquecidos antes de ser utilizados como alimento, tiene la capacidad de alimentarse de fitoplancton y residuos orgánicos (Peña, 2003). Estos organismos son muy importantes en la transferencia de energía de los niveles tróficos bajos a los más altos en los sistemas acuáticos, tiene una posición central en la cadena alimentaria acuática por el impacto que ellos tienen sobre las poblaciones de algas en la transformación del alimento dentro de sus cuerpo y su reproducción (Aguilera, 2002).

Los cladóceros son organismos de gran utilidad para la acuicultura ya que representan un aporte nutritivo, diversifican el alimento y son presa fácil para larvas de peces y crustáceos (Lavens y Sorgeloos, 1996). Particularmente los del género *Moina* son considerados presa fácil debido a su forma, movimiento, perfil nutricional y pigmentación (Sipaúba –Tavares y Rocha, 2003), la edad y la fuente de alimentación determina su calidad nutricional y perfil bromatológico (Ferraão-Filho *et al.*, 2003). Los cladóceros, particularmente *Daphnia magna* y *Moina macrocopa* (en cuerpos de agua dulce) son los de mayor uso como presas de peces. Las especies de *Daphnia* se prefieren en países templados mientras que en los tropicales *Moina macrocopa* es preferida por su amplia distribución, mayores densidades y tasas de crecimiento (Sarma *et al.*, 2005) y sobre todo porque las larvas de muchas especies las prefieren (Zaret 1980).

Evaluación de la calidad nutrimental de las microalgas

Según algunos autores (Sarma *et al.*, 2005; Peña-Aguado *et al.*, 2005), el valor nutricional y la cantidad de alimento suministrada, influye sobre la tasa de reproducción y sobre la frecuencia reproductiva de cladóceros y rotíferos; determinando el crecimiento de la población, por lo que se ha observado, en muchas especies de zooplancton, una relación directa entre la producción de huevos partenogenéticos y la cantidad de alimento disponible (Sipaúba –Tavares y Rocha, 2003).

Existen varios métodos para evaluar los efectos del tipo de alimento sobre el crecimiento de las poblaciones cultivadas de zooplancton, entre los que se encuentran el análisis bromatológico y la cuantificación de la densidad de la población (Watanabe *et al.*, 1983).

El uso de diferentes dietas para el cultivo de cladóceros del género *Moina*, ha sido investigado por diferentes autores, sin embargo el alimento vivo, es indispensable, no solo por sus características nutricionales sino también por las conductas alimenticias presentes en las crías.

La calidad de una dieta se puede valorar mediante análisis proximales así como mediante crecimientos en bioensayo. La evaluación del crecimiento poblacional dependen en gran medida de la relación entre la eficiencia de captura y el valor nutritivo de la presa ingerida (Yúfera y Pascual, 1984; Amat-Domènech, 1993), mientras que la dinámica de una población puede ser expresada por algunos parámetros poblacionales, tal como: tiempo de eclosión, tiempo de desarrollo, tiempo de residencia en cada estadio, tasa de mortalidad de cada estadio, proporción de sexos, tiempo de generación o duplicación poblacional, esperanza de vida e incremento o decremento de la densidad poblacional. Estos parámetros pueden obtenerse mediante la aplicación de una tabla de vida.

Antecedentes

En acuicultura, la investigación de especies fitoplanctónicas se puede observar su papel para cultivar zooplancton (Flores-Burgos *et al.*, 2003). También, se ha abordado el comportamiento alimenticio selectivo de especies de cladóceros, estimando el efecto de dietas orgánicas de organismos algales (*Scenedesmus incrasatulus*) y de estiércol en el desarrollo poblacional (Espinosa-Chavez *et al.*, 1992), mostrando que los cladóceros maximizan su ganancia neta de energía elevando su tasa de ingestión de alimento.

En este mismo contexto, dietas a base de alga y una levadura, indican que las tasas de crecimiento de rotíferos son influenciados de manera significativa por la calidad de la dieta, y que son inferiores cuando se usa únicamente la levadura que con la combinación con el alga (Peña-Aguado *et al.*, 2005). Otro aspecto (dietas combinadas y la interacción con factores físico químicos) indica que los resultados son dependientes de la especie de zooplancton que se utilice puesto que en un estudio anterior (Jiménez *et al.*, 2003) mostraron que el desarrollo de *Moina macrocopa* fue mayor (densidad pico de 9429 Ind/L) que el de camarones-Z marinos alimentados con las mismas dietas pero con distintas salinidades.

Sobre el impacto de la calidad nutritiva de Chlorophyceae (*Chlorella sp.* y *Oocystis sp.*) y la densidad, en cladóceros Moinidae y Daphnidae (*Moina micrura*, *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia ambigua*), Martínez (2000) estimó y comparó la conducta alimentaria de esas especies y concluye que *Moina micrura* presenta una mayor eficiencia de consumo sobre *Chlorella sp.*

En cuanto a la densidad y calidad nutricional de la microalga, *Chlorella vulgaris*, Nandini y Sarma (2003) evaluaron los patrones de crecimiento de siete especies de cladóceros *Alona rectangula*, *Ceratodaphnia dubia*, *Daphnia laevis*, *Diaphanosoma brachyurum*, *Moina macorcopa*, *Scapholeberis kingi* y

simocephalus vetulus) utilizando el alga *Chlorella vulgaris* como alimento a distintas concentraciones.

Por su parte, Alva-Martinez *et al.*, (2001) documentaron el efecto de la calidad nutricional de algas de distintas clases: Chlorophyceae (*Chlorella vulgaris*) y Cyanophyceae (*Microcystis aeruginosa*), y tres densidades, sobre la dinámica poblacional de *Daphnia pulex*, *Moina macrocopa* y *Ceriodaphnia dubia*.

Justificación

La literatura sobre dietas algales muestra que básicamente todos estos trabajos se han valorado a través de estudios poblacionales. También es muy importante que el efecto de cada tipo de alimento (dieta) en las especies, sea valorado individualmente. Sin embargo, los organismos zooplanctónicos (filtradores), raramente consumen alimento individualizado y es muy probable, que los cambios estacionales induzcan cambios en la composición, abundancia y diversidad de la comunidad algal (Padisa'k y Reynolds, 1998), y por ende en la dinámica y desarrollo de los herbívoros (Lampert y Sommer, 1997). Por esta razón, es necesario estudiar el impacto de la combinación de dietas algales en herbívoros zooplanctónicos como el cladóceros *M. macrocopa*.

En la evaluación del efecto de las dietas en las especies acuáticas, la mayoría de los estudios han considerado la valoración proximal nutritiva y el crecimiento de las poblaciones o analizar el comportamiento demográfico. Muy raramente ambos acercamientos; crecimiento poblacional y tablas de vida demográficas. Asimismo, en estudios demográficos previos con *M. macrocopa*, se ha valorado una solo tipo de dieta y en desarrollo poblacional, no se sabe hasta qué grado, la combinación o mezcla de algas en proporciones, afecta o altera los rasgos de vida demográficos del cladóceros.

Al respecto, este estudio intenta arrojar claridad mediante la comparación de las respuestas de desarrollo y demografía poblacional de *Moina macrocopa* expuesta

a dietas individuales y en combinación de dos especies de Chlorophyceae. Por estas razones, el presente trabajo tiene los siguientes objetivos

Objetivo Global

Evaluar el efecto nutrimental (individual y combinada) de dos especies de microalgas *Chlorella vulgaris*, y *Scenedesmus acutus* en rasgos demográficos y de desarrollo de *Moina macrocopa*.

Objetivos Específicos.

1. Estimar la dinámica de desarrollo poblacional de *Moina macrocopa* alimentada, individualmente y en combinaciones, con *Chlorella vulgaris*, y *Senedesmus acutus*.
2. Establecer las respuestas demográficas de *Moina macrocopa* alimentada, individualmente y en combinaciones, con *C. vulgaris*, y *S. acutus*.
3. Definir el perfil de ácidos grasos en las especies de micro-algas utilizadas en este trabajo

Pregunta Experimental.

Estudios previos indican que las tasas de crecimiento de zooplanctones son influenciados de manera significativa por la calidad de la dieta. Sí los estudios previos indican que las tasas de crecimiento de zooplanctones son influenciados de manera significativa por la calidad de la dieta, entonces, ¿cuál dieta alimenticia, individual o en combinación induce un mejor desarrollo en *Moina macrocopa*?

Material y métodos

Especies utilizadas

Clorella vulgaris: Este género está ampliamente distribuido en aguas dulces y saladas, y también en el suelo. *Chlorella* fue la primera alga aislada y llevada a cultivo axénico, fue el microbiólogo holandés Beijerinck quien lo consiguió en 1890 (Shubert y Gärtner, 2003). Las células son esféricas, ovoides o elipsoides, solitarias o agrupadas. El protoplasto consta de un cloroplasto en forma de copa que puede contener o no un pirenoide, y de un citoplasma central incoloro, en el cual está inmerso el núcleo diminuto (Sze, 1998). La reproducción asexual se presenta por medio de autosporas. En la reproducción asexual, las células maduras se dividen en porciones cada vez menores, hasta que se obtienen fragmentos uninucleados, cada uno de los cuales actúa como una zoospora (Dillard, 1989). *Chlorella vulgaris* es una de las especies de microalgas más estudiada por su fácil cultivo, rápido crecimiento y su alto potencial en la producción de metabolitos secundarios.

Scenedesmus acutus: Esta es un alga muy común que se comporta de forma cenobial, que suele presentarse casi como un cultivo puro en el plancton. Las células en la colonia se organizan en múltiplos de dos, las especies más comunes presentan cuatro u ocho células (Lee, 2008). Las células son elipsoides, ovoides o en forma de media luna, la pared celular es lisa y no presenta espinas. El cloroplasto es parietal y usualmente tiene un pirenoide. Este es probablemente el género de Chlorococcales más comúnmente reportado y frecuentemente abundante en aguas ricas en nutrientes, especialmente con un alto contenido de nitrógeno (Shubert y Gärtner, 2003). La reproducción, que en muchas especies es totalmente asexual, se realiza mediante la formación de autocolonias en el interior de cada célula adulta. Dichas autocolonias quedan en libertad por ruptura de la pared de la célula madre y después alcanzan gradualmente el tamaño y la ornamentación característica de la especie (Lee, 2008). Dentro de este género,

Scenedesmus acutus es una especie ampliamente estudiada y cultivada principalmente como fuente de alimento en la industria de la piscicultura

Moina macrocopa. Conocida como pulga del agua (Diplostraca: Moinidae), un crustáceo cladóceros común en el ecosistema dulceacuícola, es una especie zooplanctónica importante en las cadenas tróficas epicontinentales (Iannacone y Alvarino, 2000) de manera particular el género *Moina* se caracteriza por su contenido proteico que oscila entre 59-78% y del 12-27% de lípidos (Watanabe *et al.*, 1983).

Para la realización de este trabajo se utilizó la especie del cladóceros *Moina macrocopa* (Straus, 1820), proveniente del lago de Xochimilco Ciudad de México, la cepa del cladóceros se mantiene en cultivo en el laboratorio de Metodología científica V de la FES Iztacala UNAM.

Los cladóceros se mantuvieron en EPA, que es una solución de agua destilada y sales disueltas (NaHCO₃ 0.095 g/lit, CaSO₄ 0.06 g/lit, MgSO₄ 0.06 g/lit, KCL 0.002 g/lit) como medio de cultivo, el cual se cambia cada 24 hrs.

Dietas

Se utilizaron dos cepas de algas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus* provenientes de un cultivo establecido en laboratorio de Zoología Acuática de FES Iztacala, las cuales se mantuvieron en medio Bold-Basal (Borowitzka y Borowitzka, 1988). El contenido de peso seco de *Chlorella vulgaris* está compuesta por 24.43% de ácidos grasos, 3.7% de lípidos, 21.9% de proteínas, 44.1% de carbono, 3.2% de nitrógeno mientras que *Scenedesmus acutus*, peso seco, está compuesto por 27.48% de ácidos grasos, 10.6% de lípidos, 32.0% de proteínas, 46.7% de carbono, 3.9% de nitrógeno y 0.55% fósforo (Ahlgren *et al.*, 1992).

Los cultivos se mantuvieron en botellas de dos litros a temperatura de 25+/- 1 °C y aeración constante así como luz difusa en forma continua; la concentración inicial

oscilo entre 0.5 y 1.0×10^6 cels ml^{-1} , dejando que su crecimiento llegara a la fase exponencial aproximadamente de 25×10^6 cels ml^{-1} que se alcanzó entre los 7 y 10 días (Enríquez-García *et al.*, 2003). Al término de estos días se les retiro el aire y se mantuvieron en refrigeración por 7 días para que las células de las algas se sedimentaran, transcurrido esos días las botellas se decantaron, y se conservaron en un frasco para su posterior uso.

Para saber la concentración de células de *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus* se realizó un conteo con la ayuda de una cámara de Neubauer y un microscopio óptico.

Fase experimental

Se utilizaron frascos de vidrio transparentes de 50 ml en los cuales se utilizó el alimento como tratamiento, se aplicó diariamente en 3 concentraciones diferentes, la primera solo con *Chlorella vulgaris*, la segunda solo con *Scenedesmus acutus* y la tercera en una concentración 50:50 de ambas.

La fase experimental se dividió en 2 etapas:

- A) Tabla de vida.- Se colocaron cohortes de 20 neonatos (<24 horas) de *Moina macrocopa* en cada recipiente conteniendo 50 ml de la concentración con algas. Se realizaron 4 réplicas de cada concentración del alga, que hicieron un total de 12 frascos. El conteo se realizó con la ayuda de un microscopio estereoscópico donde se reservaban los neonatos que eclosionaban para realizar posteriormente con ellos el perfil de ácidos grasos, dejando solo los adultos hasta que termino el último día de vida de cada uno. El conteo de los organismos se realizaba diariamente cambiando el medio de cultivo por uno reciente. El experimento se llevó a cabo bajo condiciones de laboratorio a temperatura constante.

Los resultados de las pruebas demográficas se analizaron con las siguientes formulas (Krebs, 1985).

Tabla de vida.

➤ Tasa reproductiva bruta = $\sum_0^{\alpha} m_x$

donde: m_x = fecundidad

➤ Tasa reproductiva neta $R_0 = \sum_0^{\alpha} l_x m_x$

donde: l_x = supervivencia
 m_x = fecundidad

➤ Tiempo de generación (T) = $\frac{\sum l_x m_x \cdot x}{R_0}$

donde: l_x = supervivencia
 m_x = fecundidad
 x = edad

➤ Tasa de incremento poblacional (r) =

$$\sum_{x=0}^n e^{-rx} l_x m_x = 1$$

donde: e = 2.718
 x = edad
 $l_x m_x = R_0$

B) Crecimiento poblacional.- se colocaron poblaciones de 10 individuos de *Moina macrocopa* (5 neonatos, 3 juveniles y 2 adultos pre-reproductores), en cada recipiente conteniendo 50 ml de la concentración con algas. Cada 24 h, se contaron los individuos y se cambiaron a medios frescos con las mismas condiciones experimentales. El estudio terminó cuando las poblaciones dejaron de crecer y comenzaron a decaer. La evaluación seguirá procedimientos estándares (Krebs, 1985).

Para valorar el crecimiento de la población se utilizó la fórmula (Krebs, 1985):

Crecimiento poblacional

$$\frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}$$

donde : N_0 = densidad inicial

N_t = densidad al tiempo t

Obtención de ácidos grasos

Se realizó el perfil de ácidos grasos, de las dos algas utilizadas como dietas, así como de los neonatos de *Moina macrocopa* obtenidos de los ensayos para obtener la tabla de vida, mientras que los adultos provinieron de los ensayos de crecimiento. La extracción de lípidos se realizó de acuerdo con el método de Bligh y Dyer (1959) mientras que los esteres metílicos de ácidos grasos (FAME) fueron obtenidos por transesterificación (Morrison y Smith, 1964). La composición de ácidos grasos se determinó utilizando un estándar de FAME en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer Clarus 500, equipado con un detector FID y controlado por ordenador, así como una columna omegawax capilar (30 m X 0,25 mm ID) y el nitrógeno de alta pureza como gas portador. El estándar de éster metílico del ácido graso y 14% de trifluoruro de boro en metanol se obtuvieron de Sigma-Aldrich Chemical Co.

Para valorar, la significancia de los datos, el crecimiento poblacional y los aspectos demográficos de *M. macrocopa*, se cuantificaron mediante una ANOVA de dos variables y las diferencias entre los distintos tratamientos de dieta se realizó mediante la prueba de Tukey (Sigma plot Ver.10). Todo el diseño experimental se resume en el siguiente diagrama

Diagrama de flujo



Figura 1. Diagrama de flujo del diseño experimental del presente trabajo.

Resultados

Crecimiento poblacional

De manera global, el crecimiento mostro una dinámica similar en todas las dietas experimentales, con una etapa de latencia que osciló entre 3-5 días, e inició una etapa de crecimiento exponencial y abundancia máxima que osciló entre 190 – 671 ind/50 ml, y una fase de colapso o finalización entre 9 – 20 días en suceder, según la dieta. Este tiempo de máximo crecimiento se vio alterado significativamente ($p < 0.001$) por el tipo de alimento. Así, la dieta que indujo la mayor abundancia o densidad pico del cladócero fue la de *C. vulgaris*, y se tardó 17-20 días en alcanzarla.

En los otros dos tratamientos hubo una disminución tanto en el tiempo en el que se alcanzó la densidad máxima: reducción a la mitad del tiempo y del 47.37% en la densidad por la dieta con *S. acutus*, y de alrededor de un tercio de tiempo y una densidad en torno del 75 % (72-75 %) por la combinación de ambas dietas, respectivamente (figura 1. A, B, C). La tasa de crecimiento intrínseco por día osciló entre 0.16 – 0.23 (tabla 1). De acuerdo con la prueba de Tukey, no hubo diferencias significativas entre las dietas alimenticias mono-específicas, solo la hubo con relación a la mezcla de ambas algas (Fig.2, tabla 2).

Tabla 2. Densidades máximas de organismos alcanzadas en los diferentes tratamientos aplicados al crecimiento poblacional de *Moina macrocopa*

Dietas	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. acutus</i>	Combinación
Abundancia Max.	651 inds/ 50 ml	196 inds/ 50 ml	187 inds/ 50 ml
Periodo de Crec	20 días	13	10
Crec Intrins / Día	0.16 /día	0.20 / día	0.23 / día

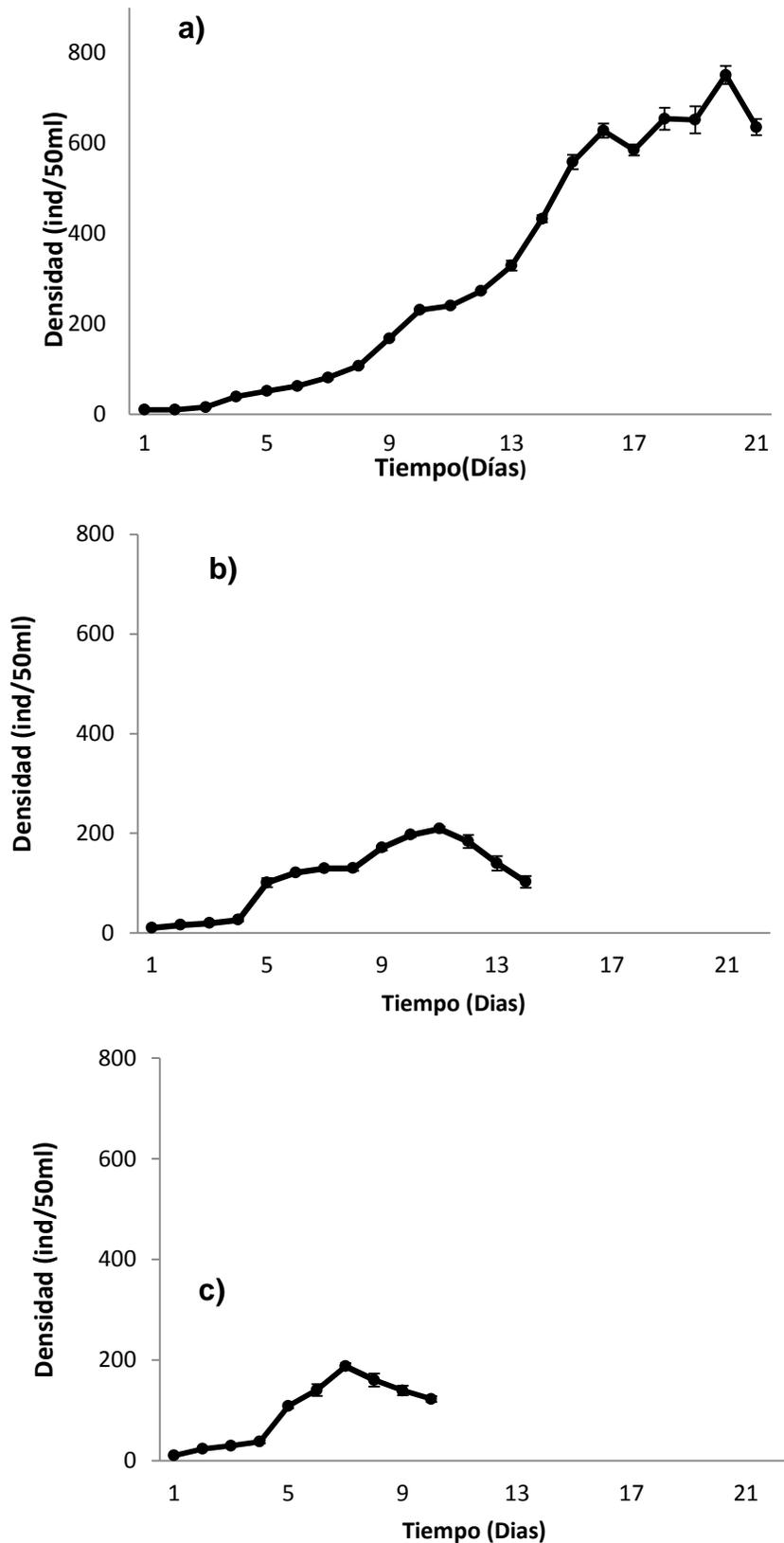


Figura 2. Crecimiento poblacional de *Moina macrocopa* con dos algas como alimento, a) *Chlorella vulgaris* 5×10^{10} cels. ml^{-1} b) *Scenedesmus acutus* 5×10^{10} cels. ml^{-1} Y la combinación de ambas c) *Chlorella vulgaris*+ *Scenedesmus acutus* 2.5×10^{10} cels. ml^{-1} / 2.5×10^{10} cels. ml^{-1} . Los promedios están dados por el promedio +/- e error estándar de cuatro repeticiones.

Demografía

La dieta, tuvo efecto según el rasgo de vida y es especie específica. De manera global, el tipo de dieta ejerció un efecto (significativo $P < 0.001$) según la variable demográfica; la respuesta fue siempre mayor con las dietas mono-específicas que por la combinada (Tabla 3). Entre variables, las de sobrevivencia (promedio y esperanza de vida y el tiempo generacional), se observa que *Moina macrocopa* alimentada con *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*, tiene en promedio, la esperanza de vida y el tiempo generacional semejantes, siendo reducidos significativamente ($P < 0.001$) por la combinación 50:50 de ambas. Las variables demográficas más afectadas son las relacionadas con la reproducción (tasas bruta y neta de reproducción y el crecimiento intrínseco por día) en los cuales la reducción osciló alrededor de 33 – 65 % según el parámetro. Cabe destacar que la diferencia entre cada dieta fue muy significativa según Tukey (Figura 3).

Un detalle importante es que el desempeño de *M. macrocopa* con la dieta con *Chlorella vulgaris* fue de mayor sobrevivencia por una menor reproducción. Esta misma alga disminuyó más las respuestas de reproducción del cladóceros que las dietas donde estuvo presente *S. acutus* y la dieta combinada. En cambio, el alimento con *Scenedesmus acutus* indujo una mayor reproducción a cambio de una menor sobrevivencia. Esta última tendencia (mayor reproducción a costa de la longevidad) también se observó en la dieta combinada (Figura 3).

Tabla 3. Variables demográficas de *Moina macrocopa* expuestas a dietas de *C. vulgaris*, *S. acutus* y la mezcla de ambas en una proporción 50:50. Los datos son el promedio y el error estándar de cuatro replicas.

	Promedio de vida	Esperanza de vida	Reproducción bruta	Reproducción neta	Tiempo generacional	r-final
<i>C. vulgaris</i>	11.1 ± 0.42	10.6 ± 0.42	17.29 ± 1.52	10.05 ± 0.87	7.12 ± 0.19	0.38 ± 0.02
<i>S. acutus</i>	7.61±0.14	7.11±0.14	35.36±1.20	15.85±1.04	5.67±0.12	0.55±0.01
<i>C.vulgaris+</i> <i>S. acutus</i>	6.46±0.11	5.96±0.11	21.55±0.45	5.59±0.55	6.10±0.24	0.30±0.01

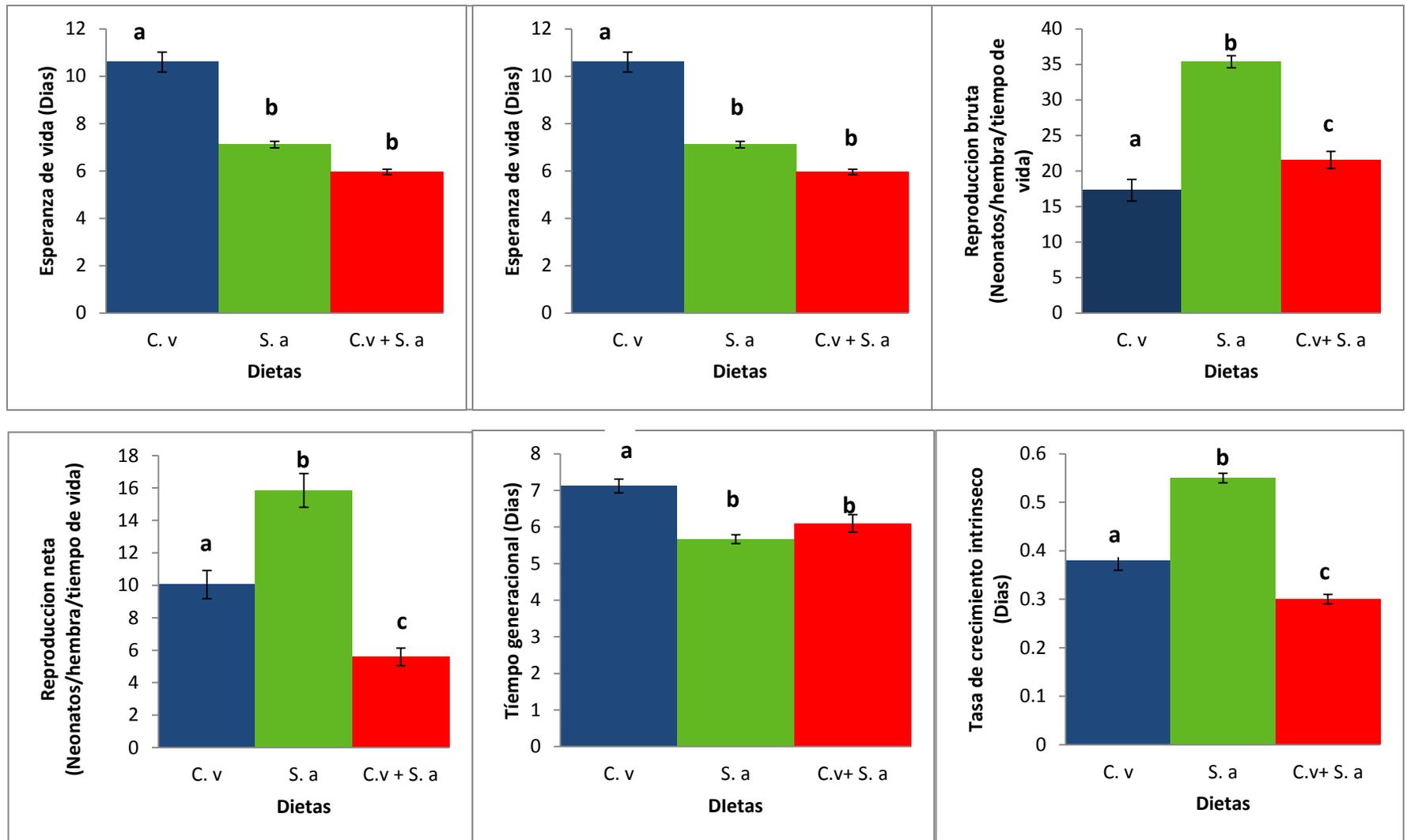


Figura 3. Variables demográficas de *Moina macrocopa* expuestas a dietas de *Chlorella vulgaris* (C. v.), *Senedesmus acutus* y la mezcla de ambas en una proporción 50:50 (C.v. + S.a.). Los datos son el promedio y el error estándar de cuatro replicas, a, b y c prueba de Tukey.

Contenido de ácidos grasos de las Chlorophyceae experimentales.

En general, el perfil de ácidos grasos de ambas algas, fue muy parecido en cuanto a su composición: solo diferente en la cantidad individual del ácido graso. En relación al grado de saturación, se pudo observar que hubo grupos de ácidos relativamente constantes dentro de las dos algas y otro donde variaron de forma muy notable. De los ácidos grasos saturados (SAFAs), los más abundantes en ambas algas fueron el palmítico y el estearíco, aunque su concentración fue más del doble en *C vulgaris* que en *S acutus*. La cantidad total de SAFAs en ambas dietas fue del 36 y el 18 % respectivamente (Tabla 4). De los insaturados Mono-insaturados (MUFAs) y poli-insaturados PUFAs), los predominantes fueron el α -Linolenico y el Oleico cuyo comportamiento fue inverso según la dieta: el primero siendo más abundante *C. vulgaris*, mientras que el segundo domino en *S acutus*. La cantidad total de estos ácidos fue cerca del 50 % total en ambas especies fitoplanctónicas.

La relación, en el perfil de ácidos grasos no saturados (mono ó poli-insaturados) de las micro-algas, *C. vulgaris* tuvo una mayor proporción de MUFAs mientras que *Scenedesmus acutus* mostró una mayor proporción de PUFAs. Esto determinó que el índice Insaturación/Saturación, sea casi 2.4 veces más que en la última micro-alga. El perfil de ácidos grasos se complementa con los indeterminados, mismos que representan casi un décimo del total (Tabla 4).

Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de *Moina macrocopa* alimentada con dietas de *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus acutus* y la combinación (1:1) de ambas algas.

Ácido Graso	<i>Chlorella vulgaris</i>			<i>Scenedesmus acutus</i>		
	# carbones	Tipo	Porcentaje	# carbones	Tipo	Porcentaje
Mirístico	14C: 0	saturado	1,93	14C: 0	saturado	1.32
Miristoleico	14C:1 ω 5	Mono-insat	0.16	14C:1 ω 5	Mono-insat	0.36
No Identif	14 – 16C		2.95	14 – 16C		1.38
Palmitico	16C:0	Saturado	27.13	16C:0	Saturado	11.87
Palmitoleico	16C:1 ω 7	Mono-insat	5.98	16C:1 ω 7	Mono-insat	8.60
No Identif	16 – 18C		1.57	16 – 18C		12.65
Esteárico	18C:0	saturado	7.67	18C:0	saturado	4.64
Oleico	18C:1 ω 9	Mono-insat	22.23	18C:1 ω 9	Mono-insat	13.99
Linoleico	18C:2 ω 6	Poli-insat	7.16	18C:2 ω 6	Poli-insat	8.56
α-Linolenico	18:3 ω 3	Poli-insat	8.98	18:3 ω 3	Poli-insat	26.94
Vaccenico	18C:1 ω 7	Mono-Insat	5.69	18C:1 ω 7	Mono-Insat	2.36
No Identif	18 – 20C		4.21	18 – 20C		4.01
Araquidónico	20C:4 ω 6	Poli-insat	2.68	20C:4 ω 6	Poli-insat	1.45
EPA	20C:5 ω 3.	Poli-insat	1.06	20C:5 ω 3.	Poli-insat	0.85
DHA	22C:6 ω 3	Poli-insat	0.61	22C:6 ω 3	Poli-insat	1.02
	Σ SAFAs = 36.73 %			Σ SAFAs = 17.83 %		
	Σ MUFAs = 34.06			Σ MUFAs = 34.04		
	Σ PUFAs = 20.59			Σ PUFAs = 20.59		
	Insaturad/ Saturad = 1.48			Insaturad/ Saturad = 3.06		

Discusión.

El crecimiento poblacional depende en gran medida de la relación entre la eficiencia de captura y el valor nutritivo de la presa ingerida (Yúfera y Pascual, 1984; Amat-Domènech, 1993). En general, la mayoría de las dietas a base de otros organismos (levadura, por ejemplo), como fuente única, tienen un valor nutricional muy bajo en relación con las dietas con microalgas (Peña-Aguado *et al.*, 2005). Las Algas presentan composiciones bioquímicas (enzimas, proteínas, ácidos grasos, etc.) que les confiere propiedades nutricionales buenas, ya sea en dietas mono-específicas o combinadas (Alhgren *et al.*, 1992; Whyte *et al.*, 1989).

De manera semejante a los resultados de este estudio con las dietas específicas, en otras investigaciones, las respuestas vitales de *Moina macrocopa* expuesta a las distintas dietas (mono-específicas y combinadas) de *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*, oscilaron dentro de rangos ya documentados en la literatura para otros zooplanctontes como cladóceros, *D. ambigua* (Sarma *et al.*, 2009), y rotíferos (Flores-Burgos *et al.*, 2003). Asimismo, en esta investigación *Moina macrocopa*, mostró diferencias muy significativas no solo entre sus respuestas vitales sino en relación a la dieta con la que se le alimento. Por ejemplo, en las dietas mono-específicas, esta especie de cladóceros siempre tuvo comportamientos vitales superiores que cuando fue alimentado con la mezcla proporcionada de ambas algas. Normalmente, las dietas mezcla, suelen diseñarse para complementarse y mejorarse nutrimentalmente (Brown *et al.*, 1999). Al parecer, no fue ese el caso en la combinación de ambas algas como dieta en nuestro trabajo, de acuerdo al comportamiento del cladóceros estudiado. Habría que analizar la composición nutrimental de cada alga con mayor detalle para establecer cuáles fueron los nutrimentos que para mejorar la dieta no sólo no se sumaron, sino que al parecer se habrían neutralizado, dado que en ningún rasgo vital (de crecimiento o demográfico), se observó una respuesta mejorada en relación a las dietas mono-específicas (Figura 3).

De las algas específicas, en general, *Chlorella vulgaris* fue una dieta más apropiada para algunas variables que aquellas de *Scenedesmus acutus*. C

vulgaris indujo una densidad alrededor de tres veces superior en la dinámica poblacional del cladóceros que la alcanzada alimentado con *S. acutus* (Figura 2.). Las especies de algas pueden variar significativamente en sus valores nutricionales (Brown, 1991), afectando las respuestas vitales de los organismos. En este contexto, *Daphnia ambigua*, alimentada con diferentes concentraciones de las mismas algas (Sarma *et al.*, 2009) exhibió coincidentemente una dinámica similar a la de *M. macrocopa* en este estudio. En parámetros demográficos no reproductivos (de sobrevivencia), también esta especie de cladóceros exhibió una mayor longevidad, esperanza y vida promedio alimentado con la misma alga. Como corolario, su fecundidad fue menor pero se extendió un mayor periodo.

Por su parte, *Scenedesmus acutus* curiosamente produjo un comportamiento inverso, en sus respuestas demográficas. Es decir, indujo una mayor fecundidad a costa de un menor periodo de sobrevivencia. Este comportamiento no es inusual en zooplanctones, en relación a la cantidad o la calidad de la dieta. *Daphnia ambigua* y *Moina macleayi* (Sarma, *et al.*, 2009a 2009b) coincidentemente, exhibieron el mismo patrón de respuestas que *M. macrocopa* en este estudio. Como se observa, en ciertos aspectos *M. macrocopa* tiene la capacidad de derrotar a otros cladóceros moinidos ya que produce buena cantidad progenie, nunca cesa de reproducirse en situaciones de estrés, y tiene un amplio espectro de alimentación

Dentro de los rasgos de algas que presentan propiedades nutricionales buenos, se encuentran los relacionados con su composición bioquímica las enzimas, proteínas, y los ácidos grasos (Whyte *et al.*, 1989) y su composición puede variar según sus condiciones de cultivo (Brown, 1991).

De acuerdo con Martin-Creuzberg y Von Elert (2004), la disponibilidad y la calidad del alimento son los factores bióticos de mayor impacto en los rasgos de vida y las estrategias de sobrevivencia de zooplanctones de agua dulce. En este contexto, Koch *et al.*, (2009) mostraron que la calidad proteínica de las algas es crucial para

la reproducción disminuida de *D. magna* en situación de estrés, incrementado la oportunidad de sobrevivencia en esas condiciones (Bouchnak y Steinberg 2014).

En su proceso de adaptación, los organismos acuáticos requieren de una dieta de compuestos esenciales (ácidos grasos SAFAs, MUFAs y PUFAs) que están relacionados con su desarrollo y desempeñan un papel fisiológico fundamental dentro de los procesos bioquímicos (Sargent *et al.*, 1997). A los SAFAs se les ha relacionado con mayores abundancias y su papel en la maduración de los huevos y el subsecuente vigor de los estadios juveniles, la concentración de SAFAs podría ser utilizado como criterio para definir dietas apropiadas tanto para reproductores como para los juveniles (Acosta-Salmon, 2004)

Los ácidos insaturados, principalmente los poli-insaturados (PUFAs), y también los ácidos grasos “esenciales” (algunos de los poli-insaturados de carbono omega ω 3, ω 6); su cantidad y calidad energética (Brett *et al.*, 2009), se les asocia a respuestas mejoradas en el comportamiento vital. Existe evidencia experimental que las dietas con PUFAs suelen mejorar el desarrollo corporal, la reproducción y la sobrevivencia en organismos acuáticos zooplanctónicos (Ravet *et al.*, 2003). Los PUFAs deben de ser ingeridos en las dietas dado que no pueden ser sintetizados de nuevo por los consumidores (cuando menos en las tasas suficientes para cubrir las necesidades fisiológicas (Arts *et al.*, 2001). Al respecto, Brett *et al.*, (2009) señalan que la cantidad de consumo umbral de PUFAs omega para algunos organismos acuáticos es $>$ al 2 %, cantidad presente en ambas dietas. En este trabajo, la cantidad de ácidos grasos poli-insaturados fue tres veces superior en *Scenedesmus acutus* (Tabla 4). Esto explicaría, cuando menos parcialmente, porque los aspectos reproductivos en *Moina macrocopa* fueron mejorados hasta en un 50 % con esta dieta, e incluso por la dieta combinada en el crecimiento poblacional del cladóceros (tabla 2).

Este cambio de estrategia según la dieta en organismos acuáticos como *M. macrocopa*, se debe a que en condiciones de estrés (competencia intra-específica en el crecimiento poblacional o por la calidad de la dieta en la demografía), el

gasto de energía para aspectos de mantenimiento corporal (desarrollo) o de reproducción depende, cuando menos parcialmente en la composición bioquímica del alimento (Bouchnak y Steinberg, 2014). Estos mismos autores argumentan que el ácido graso α -Linolenico controla el periodo de vida de cladóceros mientras que la cantidad de progenie parece deberse al contenido de carbón y a los amino ácidos en el alimento.

Al respecto, de acuerdo con una hipótesis muy aceptada, se asume de que existe un presupuesto energético fijo en organismos acuáticos (Walls y Ketola, 1989), y que los cambios facultativos de rasgos de vida de los zooplanctóntes están asociados con costos o modificación en la translocación del recurso. En consecuencia, cuando existe un intercambio entre los recursos transferidos para el crecimiento esto es a costa del asignado para la reproducción (Clark y Harvell, 1992; Stearns, 1992). Esto representa un intercambio entre la reproducción presente y la futura, e indica que los organismos en la naturaleza, pueden adoptar respuestas a cambios, aparentemente sutiles, ante dietas algales que cambian temporalmente a lo largo de sus ciclos. Esto también implica, que la estructuración de los organismos dentro de las comunidades sufre re-ajustes en función de estas respuestas fitoplanctónicas, ya que existe evidencia experimental que las dietas con ácidos poli-insaturados son cruciales en su transferencia dentro de las tramas tróficas acuáticas (Copeman *et al.*, 2002; Tocher, 2003).

Resta señalar, que el porcentaje de ácidos grasos no determinados, es muy alto y mucho del mismo, probablemente es contaminación de origen bacteriano. En los cultivos axénicos, es muy difícil controlar el crecimiento de estos micro-organismos (García *et al.*, 2012). La huella de este grupo, son los ácidos de 17C y que sufren biotransformación a ácidos grasos como el ácido vaccenico el cual tiene un porcentaje mayor al 5 % (Tabla 4).

Conclusiones.

Moina macrocopa respondió con dinámicas particulares según el tipo y calidad nutrimental del alga.

Esta especie de cladóceros tuvo comportamientos superiores en sus rasgos vitales, alimentado con dietas mono-específicas.

Chlorella vulgaris indujo mayores abundancias pico y sobrevivencias a costa de reproducción más reducida y lenta.

Scenedesmus acutus estimuló una mayor reproducción, durante menor periodo de tiempo aunque más rápidamente.

El perfil de ácidos grasos de *C vulgaris* es mayoritariamente de mono-insaturados mientras que el de *S acutus* es poli-insaturados.

Referencias

- Abalde, J., Cid A., Fidalgo, P., Torres, E. y Herrero, C. 1995. Microalgas: cultivo y aplicaciones. Universidad da Coruña. (España), 95-97.
- Acosta-Salomón, 2004. Broodstock and egg quality of the pearl oysters *Pinctada margaritifera* and *Pinctada fucata*. Tesis de doctorado, James Cook University, Australia.
- Aguilera, D. 2002. Dinámica poblacional de cuatro especies seleccionadas de cladóceros (Cladóceros: crustacea) realizada en aguas residuales urbanas parcialmente tratadas, Tesis de licenciatura, UNAM, FES Iztacala. 10-12.
- Algalbase 2017. Consultado en: <http://www.algalbase.org/>
- Alhgren, G., Gustafsson, I. y Boberg, M. 1992. Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae. *Journal Phycol.*, 28: 37-50.
- Alva- Martínez, A., Sarma, S., S., S. y Nandini, S. 2001. Comparative population dynamics of three species of cladocera in relation to different levels of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. *Crustaceana* 74 (8): 749-764
- Amat-Domènech, F. 1993. Producción de zooplancton, En: F. Castelló-Orvay (Ed). *Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Universidad de Barcelona, España. 331-358.
- Arts, M., Ackman, R. y Holub, B. 2001. Essential fatty acids in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58, 122–137.
- Ayala, F., Vargas, T. 1987. Experiments on *Spirulina* culture on waste-effluent media and at the pilot plant. *Hydrobiologia*, 91–93.
- Bligh, E. G. y Dyer, J. W. 1959. A Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37, 911-917.

- Boeing, P. 1999. Larval feed alternatives. Marine Aquafauna Inc. Internet: www.aquafauna.com/larvalfeedalt.htm.
- Borowitzka, M. A. 1988. Vitamin and fine chemicals from microalgae. En: Borowitzka, M. A., Borowitzka, L. J. Microalgae biotechnology. Cambridge: Cambridge University. 96-153.
- Borowitzka, M. A., y Borowitzka, L. J. 1988. Micro-algal biotechnology. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 96-100.
- Bouchnak, R. y Steinberg, C. 2014. Algal diets and natural xenobiotics impact energy allocation in cladocerans. II. *Moina macrocopa* and *Moina micrura*. *Limnologica*, 44, 23-31.
- Brett, M., Müller-navarra, D. y Persson, J. 2009. en. lipids in aquatic ecosystem. New York, ny: springer new york, p.115-143.
- Brown, M. 1991. The aminoacid and sugar composition of 16 species of microalgae used in Mariculture. *J. Exp.Mar. Biol. Ecol.* 145: 79-99.
- Brown, M. y Jeffrey, S.W. 1992. Biochemical composition of microalgae from the classes Chlorophyceae and Prasinophyceae. 1. Amino acids, sugars and pigments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 161: 91-113.
- Brown, M., Mular, M., Miller, I., Farmer, C. y Trenerry, C. 1999. The vitamin content of microalgae used in aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 11: 247-255.
- Canizares-Villanueva, A. y Ontiveros-Arredondo, C., 1993. Comportamiento cine ´tico de un cultivo mixto de la microalga marina *Tetraselmis chuii* y dos bacterias. *Rev. Invest. Mar.* 14, 86 – 91.

- Chapman, V. J. 1970. *Seaweeds and Their Uses*. Methuen, London.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae, *Biotechnology Advances*, 294-306.
- Chu, F.E. y Webb, K.L., 1984. Polyunsaturated fatty acids and neutral lipids in developing larvae of the oyster, *Crassostrea virginica*. *Lipids* 19: 815-820.
- Clark, C. y Harvell, C. 1992. Inducible defenses and the allocation of resources: a minimal model. *Num.* 139(3): 521-539.
- Conde, J.L., Moro, L.E., Travieso, L., Sanchez, E.F., Leiva, A., Dupeirón, R. y Escobedo, R. 1993. Biogas purification process using intensive microalgae cultures. *Biotechnol Lett* 15:317–320.
- Copeman, L., Parrish, C., Brown, J. y Harel, M. 2002. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment. *Aquaculture* 210: 285–304.
- Craig, P. J. 1991. Chemical species in industrial discharges and effluents. En: *The importance of chemical "speciation" in environmental processes*, Eds. M. Bernhard, F. E. Brinckman y P. J. Sadler, 443-464.
- Dawes, C. J. 1998. *Marine Botany*. John Wiley, NewYork, 480 pp.
- Dawson, E. Y. 1966. *Marine Botany*. Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Dillard, G. E. 1989. *Freshwater Algae of the Southeastern United States*. Part. 1. Chlorophyceae: Volvocales, Tetrasporales and Chlorococcales, in: Kies, L., Giessen, R. S., Eds., *Bibliotheca Phycologia*, Bd. 81. J. Cramer, Berlin, 202 pp.

- Enriquez-García, C., Nandini, S. y Sarma, S. S. S. 2003. Food type effects on the population growth patterns of littoral rotifers and cladocerans. *Hydrobiologia*. 31(2):1-14.
- Espinosa-Chávez, F., Martínez-Gerónimo, F. y Ramírez-Granado, R. 1992. Tasa de filtración y cultivo de *Moina macrocopa* (CRUSTACEA:CLADOCERA) alimentada con *Scenedesmus incrassatulus* (CHLOROPHYCEAE) y estiércol vacuno digerido. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. México. 19:137-142.
- Ferraão-Filho, A., Fileto, C., Lopes, N. y Arcifa, M. 2003. Effects of essential fatty acids and N and P-limited algae on the growth rate of tropical cladocerans. *Freshwater Biology*; 48:759-767.
- Flores-Burgos, J., Sarma, S. S. S. y Nandini, S. 2003. Population growth of zooplakton (rotifers and cladocerans) fed *Chlorella vulgaris* and *scenedesmus acutus* in different proportions. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* 31(3): 240-248.
- García-Balboa, C., Costas, E. y López-Rodas, V. 2012. Biosensores microalgales para la detección de contaminantes. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 6(1), 51-67
- Gelabert, R., Alfonso, E., Hernández, O. y Leal, S. 1993. Experiencias de alimentación de larvas de camarón *Penaeus smithii* con levaduras obtenidas industrialmente. *Larvicultura de Camarones Peneidos*. Vol 1 Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Cytel. 139-144.
- Guevara, P.E. 2004. Cambio climático y energía. *Rev Ciencias Edu*. 1:61-79

- Grossi, E. 2010. Primeras experiencias del cultivo del medregal negro (*Seriola rivioli*, Valenciennes 1833) en Canarias. Tesis de Doctorado, Universidad de las Palmas de Gran Canaria. España.
- Harun, R., Singh, M., Forde, G. y Danquah, M. 2010. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renew Sust Energ*;14(3):1037-1047. Doi:10.1016/j.rser.2009.11.004
- Iannacone, J. A. y Alvariño, L. 2000. *Chironomus calligraphus* Goeldi y *Moina macrocopa* (Sars) como herramientas ecotoxicológicas para la evaluación del lindano y clorpirifos. *Bol. Soc. Biol. Concepción (Chile)* 71:33-39.
- Jiménez, D., Rosas, J., Velásquez, A., Millán, J. y Cabrera, T. 2003. Crecimiento poblacional y algunos aspectos biológicos del cladocero *Moina macrocopa* (Straus, 1820) (Branchiopoda, Anomopoda), alimentado con tres dietas en tres salinidades diferentes. *Ciencia*; 11:22-30.
- Kawamura, T., Roberts, R. D. y Nicholson, C. M., 1988. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone *Haliotis iris*. *Aquaculture*, 160: 81-88.
- Koch, U., Von Elert, E. y Straile, D. 2009. Food quality triggers the reproductive mode in the cyclical parthenogen *Daphnia* (*Cladocera*) *Oecologia*. 159:317–324.
- Krebs JC. 1985. *Ecología: Estudio de distribución y abundancia*. México. Segunda edición. Harla México. 753 p.
- Lampert, W. y Sommer, U. 1997. *Limnoecology*. Oxford University Press, New York, New York, USA.

- Langdon, C.J., Waldo, M. J., 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. Journal of the Marine Biological Association, United Kingdom, 61: 431-448.
- Lavens, P. y Sorgeloos, P. 1996. Introduction. In: - (eds). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No 361. Rome: FAO, M.MVZ-CÓRDOBA 2001; 6:(2), 102-110.
- Lee, R.E. 2008. Phycology. Fourth edition, Cambridge University Press, New York. 426–483pp.
- Macedo, C. y Pinto-Coelho, R. 2001. Nutritional status response of *Daphnia laevis* and *Moina micrura* from a tropical reservoir to different algal diets: *Scenedesmus quadricauda* and *Ankistrodesmus gracilis*. Programa de Pós-graduação em Ecologia, conservação e Manejo da Vida Silvestre (ECMVS). Bras. J. Biol., 61(4): 555-562
- Martin-Creuzburg, D. y Von Elert, E. 2004. Impact of 10 dietary sterols on growth and reproduction of *Daphnia galeata*. J. Chem. Ecol. 30: 483 – 500.
- Martínez, G. 2000. Conducta alimentaria de *Daphnia ambigua* Scourfield 1947, *Moina micrura* Kurz 1874 y *Ceriodaphnia dubia* Richard 1895 (Cladocera) frente a un gradiente de concentración de alimento. Revista Chilena de Historia Natural 73: 47-54.
- Martínez-Palacios, C., Chávez-Sánchez, C., Papp, S., Abdo-de la Parra, M. y Roos, L. 2002. Observations Avances en Acuicultura y Manejo Ambiental 105 Capítulo 5 Cultivo larvario del botete diana (*Sphaeroides annulatus*) on spawning, early development and growth of the puffer fish *Sphaeroides annulatus* (Jenyns, 1843) J Aquac in the Tropics 17(1):59-66.
- Martínez, J. y Ventura, L. C. 2011. Population dynamics of the tropical cladoceran *Ceriodaphnia rigaudi* Richard, 1894 (Crustacea: Anomopoda). Effect of food type and temperature. Journal of Environmental Biology, 32: 513- 521.

- Mata, T. M.; Caetano, N. S. y Martins, A. A. 2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review Renewable and Sustainable Energy Reviews, 217-232.
- Merchie, G., Lavens, P. y Sorgeloos, P. 1997. Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: a review. Aquaculture, 155: 165-181.
- Morrison, W. R. y Smith, L. M. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoridemethanol. J Lipid Res;5:600-608.
- Nandini, S. y Sarma, S. S. S. 2003. Population growth of some genera of cladocerans in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. Hydrobiologia, 491: 211-219.
- Norton, T. A., Melkonian, M., y Andersen, R. A. 1996. Algal biodiversity. Phycologia 35(4):308-326.
- Padisa'k, J. y Reynolds, C. S. 1998. Selection of phytoplankton associations in Lake Balaton, Hungary, in response to eutrophication and restoration measures, with special reference to cyanoprokaryotes. Hydrobiologia 384: 41-53.
- Peña, F., 2003. Crecimiento poblacional de tres rotíferos y dos cladóceros planctónicos en relación con el tipo de dieta. Tesis Maestría. UNAM. 56 p.
- Peña-Aguado, F., Nandini, S., Sarma, S. S. S. 2005. Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. Limnológica; 35:298-303.

- Ravet, J., Brett, M. y Müller-Navarra, D. 2003. A test of the role of polyunsaturated fatty acids in phytoplankton food quality for *Daphnia* using liposome supplementation. *Limnol Oceanogr* 48:1938–1947
- Renaud, S. y Parry, D. 1994. Microalgae for use in tropical aquaculture. 2. effect of salinity on growth, gross chemical-composition and fatty-acid composition of 3 species of marine microalgae. *J Appl Phycol* 6:347–356.
- Renaud, S., Parry, D., Thinh, L., Kuo, C., Padovan, A. y Sammy, N. 1991. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp., and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *J Appl Phycol* 3:43–53.
- Romero, T. 2009. Desarrollo de *Moina* sp en condiciones de laboratorio alimentada con micro algas cultivadas en residuales pesqueros. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040409/040915.pdf>, documento, Acceso: 9 de marzo de 2012.
- Sargent, J., McEvoy, L. y Bell., J. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, 155: 117-127.
- Sarma, S. S. S., Gulati, R. D. y Nandini, S. 2005. Factors affecting egg-ratios in planktonic rotifer populations under culture conditions. *Hydrobiología*; 546:361-373.
- Sarma, S. S. S., Tavera-Briseño, K. y Nandini, S. 2009(a). Effect of type and concentration of algal food (*Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus*) on the population dynamics of *Daphnia ambigua* Scourfield, 1947 (Cladocera, Daphniidae). *Crustaceana* 82(3):357-366

- Sarma, S.S.S., Serranía-Soto, C. y Nandini, S. 2009(b). Rotíferos. In: Ceballos G, List R, Garduño G, López-Cano R, Muñozcano-Quintanar MJ, Collado E, San-Román JE, editors. La diversidad biológica del Estado de México: Estudio de Estado. Biblioteca Mexiquense del Bicentenario. Colección Mayor, Gobierno del Estado de México, Mexico. p. 113–117; Appendix VII, p. 411–416.
- Shubert, E. y Gärtner. 2003. Nonmotile Coccoid and colonial Green Algae. En: Wehr, J. D. y Sheath, R. G. 2003. Freshwater algae of North America. Ecology and classification. Academic Press. USA. 315-373pp.
- Sim, T.S., Goh, A., Becker, E.W. 1988. Comparison of centrifugation, dissolved air flotation and drum filtration techniques for harvesting sewage-grown algae. *Biomass* 16 (1), 51–62.
- Sipaúba –Tavares, L. y Rocha, O. 2003. Produção de plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos. São Carlos: RIMA, 106p.
- Stearns, S. 1992. The evolution of life histories. Oxford University Press, Oxford , 262 p.
- Soorgeloos, P. 1980. The use of the brine shrimp *Artemia* in aquaculture. In: The brine shrimp *Artemia*. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universal Press, Wetteren. Vol 3: 24-46.
- Stryer, L. 1995. Bioquímica. Reverté. 1009 p.
- Sukenik, A. y Carmeli, Y. 1990. Lipid synthesis and fatty acid composition in *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae) grown in a light–dark cycle. *J. Phycol.* 26, 463–469.
- Sze, P. 1998. A Biology of the Algae. Third edition. WCB/McGraw-Hill.

- Tocher, D. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11: 107–184.
- Van Den Hoek, C., Mann, D. G. y Jahns H. M. 1995. *Algae. An introduction to Phycology*. Cambridge University Press. Cambridge. 627 p.
- Volkman, J., Jeffrey, S., Nichols, P., Roopers, G. y Garland, C. 1989. Fatty acid and lipid classes of ten species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 128: 219-240.
- Walls, M. y M. Ketola. 1989. Effects of predator-induced spines on individual fitness in *Daphnia pulex*. *Limnol, Oceanogr.* 34:390-396.
- Watanabe, T., Kitajima, C. y Fujita, S. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture* 34: 115-143.
- Webb, K. L. y Chu, F. E., 1983. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. En: "Proceedings of the second international Conference on Aquaculture Nutrition and physiological approaches to shellfish nutrition", Oct 27-29, 1981. Pruder, G.D., Langdom C.J., y D. E. Conklin (eds.), Louisiana State Univ.
- Whyte, J., Boume, N. y Hodgson, C. 1989. Influence of algal diets on biochemical composition and energy reserves in *Patinopecten yessoensis* (Jay) larvae. *Aquaculture* 78: 333-347.
- Yúfera, M. y Pascual, E. 1984. La producción de organismos zooplanctónicos para la alimentación larvaria en acuicultura marina. *Inf. Téc. Inv. Pesquera* 1119, 3-27.

Zaret, T. M. 1980. Life history and growth relations of *Cichla ocellaris*, a predatory South American Cichlidae. *Biotropica* 12(2): 144-157.